FUJIFILM

MANUAL

Kit S QuickGene de extracción de ADN en Tejidos (DT-S)

Para aislamiento de ADN genómico de muestras en tejidos

ÍNDICE

1 Introducción....3
2 Componentes del kit....3
3 Condiciones de Almacenamiento....3
4 Otros materiales necesarios, no incluidos en este kit....4
5 Advertencias sobre Seguridad....5
6 Advertencias....6
7 Controles de Calidad....6
8 Protocolos....7
8.1 Preparación de los Reactivos....7
8.2 Preparación de Muestras....8
8.3 Aislamiento de ADN Genómico utilizando el Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene. 13
9 Resolución de Problemas....15
10 Información sobre pedidos....16
11 Contactos....17
Apéndice 1....18

1 Introducción

Fuji Photo Film Co., LTD desarrolló y patentó una revolucionaria membrana porosa para inmovilizar ácido nucleico. Debido a su gran área superficial específica, y a su porosidad fina y uniforme, QuickGene aísla satisfactoriamente ADN genómico con alto rendimiento; y más aún , con la utilización de su membrana, elimina la mayoría de los contaminantes. QuickGene utiliza la técnica de filtración a presión, la cual no puede utilizarse satisfactoriamente con membranas típicas de fibra de vidrio; utilizando la técnica de filtración a presión se puede usar con gran éxito una nueva instrumentación, compacta y automatizada para la purificación rápida de ácido nucleico.
Utilizando el kit S de QuickGene para extracción de ADN en tejidos junto con la serie de Sistemas Automáticos de Aislamiento de Ácido Nucleico QuickGene se podrá aislar y también purificar ADN genómico de muestras en tejidos con muy alta calidad y rendimiento. Adicionalmente, se pueden extraer 8 muestras lisadas de tejidos simultáneamente, en sólo 13 minutos. El ADN genómico, de alta calidad, purificado se puede utilizar para aplicaciones con PCR , digestión con enzimas de restricción, Southern Blotting, y otras aplicaciones.

Por favor asegúrese de leer cuidadosamente este manual antes de la utilización del kit.

2 Componentes del kit

El kit incluye los reactivos necesarios para 96 conjuntos de aislamiento de ADN genómico.

- Proteinasa K (EDT)
- Tampón de Lisis de Tejidos (MDT)
- Tampón de Lisis (LDT)
- Tampón de Lavado (WDT)
- Tampón de Elución (CDT)
- Cartuchos (CA)
- Tubos de recogida (CT)
- Tapones (CAP)
- Tubos de desecho (WT)

3 Condiciones de Almacenamiento

Temperatura de almacenamiento para todos los reactivos: de 15 ºC a 28ºC
Temperatura de almacenamiento para Proteinasa K (EDT)(una vez abierto el kit S ADN en tejidos QuickGene): de 2ºC a 8ºC (recomendado para mantener su actividad)

4 Otros materiales necesarios, no incluidos en este kit

♦ **Reactivos**
- Etanol (>99%)
- RNasa A (opcional)

♦ **Instrumentos y Equipamiento**
- Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene
- Tubos de centrigufa de 2ml
- Tubos de Centrifuga (ver Tabla 1)
- Micropipetas y puntas
- Agitador Vortex Mixer
- Microcentrifuga (c.a. 5,000xg)
- Contenedor de tubos
- Agitador rotativo con calentamiento

Tabla 1. Tubos de Centrífuga recomendados

Tamaño del Contenedor de tubos de centrífuga de la serie QuickGene	Tipo de tubo de centrífuga	Nombre del producto (ejemplos)
Estándar	Tubo de centrífuga grande (para WDT)	Tubo cónico BD Falcon™ 50ml
	Tubo de centrífuga pequeño (para CDT)	Tubo cónico BD Falcon™ 15ml
Grande	Tubo de centrífuga grande (para WDT)	Tubo cónico BD Falcon™ 175ml Tubo cónico BD Falcon™ 225ml
	Tubo de centrífuga pequeño (para CDT)	Tubo cónico BD Falcon™ 50ml

Los tubos de centrifuga se usan con los Sistemas de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene como tubos contenedores del tampón de lavado (WDT) con etanol y del tampón de elución (CDT).

Tabla 2. RNasa A recomendada para procesos opcionales.

Nombre del Producto	Fabricante	Nº Cat.	Preparación
Ribonucleasa A	Sigma	R5125	1,2
Ribonucleasa A	Sigma	R5500	1,2
Ribonucleasa A	Sigma	R6513	1
Ribonucleasa A	Sigma	R4642	
Ribonucleasa A	MP Biomedicals	101076	1,2
RNasa A	AMRESCO	0675	1,2
RNasa A	QIAGEN	19101	
RNasa A	Invitrogen	12091	

Preparación
1. Prepare una solución 100mg/ml con 10mM Tris-CLH (pH 7,5) y 15mM ClNa
2. Incubar a 100ºC durante 15 min. para desactivar DNasa

5 Advertencias sobre Seguridad

Advertencia: Para uso en investigación únicamente
No recomendado ni dirigido a aplicaciones diagnósticas o clínicas para humanos y animales.

Todos los reactivos y artículos del kit deberían considerarse química y biológicamente peligrosos. Durante la realización de los experimentos es altamente recomendable utilizar la vestimenta apropiada de laboratorio, guantes y gafas de seguridad . En caso de contacto de los reactivos con los ojos, la piel o la vestimenta, lávese inmediatamente con agua. (vea las recomendaciones específicas en la hoja de datos de Seguridad Material, http://www.fujifilm.co.jp/msds

Proteinasa K (EDT)
Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental.
En caso de contacto de los reactivos con los ojos , piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua.

Tampón de Lisis de Tejidos (MDT)
Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental.
En caso de contacto de los reactivos con los ojos, piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua.

Tampón de Lisis (LDT)
No ingerir. Producto venenoso
Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental.
En caso de contacto de los reactivos con los ojos, piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua.
Utilice la vestimenta apropiada de laboratorio, guantes y gafas de seguridad.

Tampón de Lavado (WDT)
Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental.
En caso de contacto de los reactivos con los ojos, piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua.

Tampón de Elución (CDT)
Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental.
En caso de contacto de los reactivos con los ojos, piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua.

- Manipule el Tampón de Lisis (LDT) en una zona bien ventilada y manténgalo lejos de fuentes de calor, chispas o llamas. Mantenga el contenedor firmemente cerrado. Su inhalación podría ser nociva. No lo mezcle con desinfectantes, como la lejía.
- En cuanto al tratamiento de los residuos líquidos y los consumibles: Cuando utilice muestras potencialmente infecciosas para sus experimentos, realice el tratamiento de los residuos de acuerdo con la normativa aplicable.

6 Advertencias

- Consulte el MSDS (hoja de datos de Seguridad Material) para revisar las recomendaciones específicas de manipulación y propiedad.. Esta hoja de datos (MSDS), se puede obtener de la siguiente página web: http://lifescience.fujifilm.com
- Consulte el Manual de usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de QuickGene, antes de utilizarlo.

7 Controles de Calidad

- El Kit S QuickGene de extracción de ADN en tejidos, ha sido específicamente diseñado para aislamiento genómico de ADN de una muestra de tejido de 5mg.
- La estabilidad de los reactivos está garantizada por un año desde la compra siempre que se haya almacenado a la temperatura especificada (de 15ºC a 28ºC)
- Como parte del riguroso programa de calidad en Fuji Photo Film Co, LTD, las prestaciones del kit S QuickGene ADN en tejidos se evalúan rutinariamente, asegurando la uniformidad de lote a lote.
- Se ha verificado la no contaminación del kit S QuickGene ADN en tejidos con otros ADN, DNasa o bacterias.
- Se ha comprobado la calidad y el rendimiento de los ADN genómicos aislados, por medio de la medida de la absorbancia a 260nm, relación de absorbancia (260nm/280nm) y amplificación PCR.

8 Protocolos

8.1 Preparación de los Reactivos

Proteinasa K (EDT)

Temperatura de almacenamiento para Proteinasa K (EDT)(una vez abierto el kit S ADN en tejidos QuickGene): de 2ºC a 8ºC (recomendado para mantener su actividad)

Tampón de Lisis de Tejidos (MDT)

Si hay precipitados en el Tampón de Lisis de Tejidos, incube la botella en un baño de agua a 55ºC y mezcle invirtiendo la botella intermitentemente hasta que el precipitado se haya disuelto. Una vez disuelto el Tampón de Lisis de Tejidos, enfríe la botella a temperatura ambiente antes de su uso.

Tampón de Lisis (LDT)

Mezcle muy bien antes de usar.
Si hay precipitados en el Tampón de Lisis, incube la botella en un baño de agua a 37ºC y mezcle invirtiendo la botella intermitentemente hasta que el precipitado se haya disuelto. Una vez disuelto el Tampón de Lisis, enfríe la botella a temperatura ambiente antes de su uso.

Tampón de Lavado (WDT)

Añada 160ml de etanol (>99%) en la botella y mezcle invirtiendo la botella suavemente antes de su primer uso.

Requerimientos para el Tampón de Lavado (WDT) con etanol (>99%) y el Tampón de Elución (CDT)

Prepare los volúmenes de muestra requeridos para la preparación del Tampón de Lavado (WDT) con etanol(>99%) y del Tampón de Elución (CDT) de acuerdo con el número de muestras para la extracción; siga la tabla siguiente:
Coloque los tampones en cada tubo y coloque los tubos en el Contenedor de Tubos del equipo QuickGene. (Consulte el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de QuickGene).

Tabla 3 Volumen del tampón y número de muestras a colocar en el equipo QuickGene

Número de Muestras	WDT con Etanol	CDT
8	26 ml	8 ml
16	44 ml	11 ml
24	62 ml	13 ml
32	80 ml	15 ml
40	99 ml	17 ml
48	117 ml	19 ml
56	135 ml	21 ml
64	154 ml	22 ml
72	172 ml	24 ml
80	190 ml	26 ml
88	209 ml	28 ml
96	227 ml	30 ml

8.2 Preparación de Muestras

- Básicamente el kit S QuickGene de extracción de ADN de tejido ha sido específicamente diseñado para el aislamiento de ADN genómico de una muestra de tejido de 5mg. Sin embargo sería capaz de aislar el ADN genómico de una muestra de 20 mg de cola de ratón hembra Balb/c de 6 semanas.
- El rendimiento y tiempo de preparación varía con el volumen de la muestra, el tipo de tejido, las condiciones de almacenamiento del tejido y las características del lisado.
- Se podrá aislar el ADN genómico de una muestra de 20mg de Hígado de ratón hembra Balb/c de 6 semanas, sin tratamiento de RNasa. En este caso puede que el cartucho del equipo QuickGene se obstruya o el tiempo de elución se dilate.
  Cuando se use una muestra de más de 5mg de hígado, la digestión de ARN puede resultar incompleta. En este caso pruebe previamente las características del tratamiento con RNasa.
- Se podrá aislar el ADN genómico de una muestra de 10mg de Pulmón o Riñón de ratón hembra Balb/c de 6 semanas, sin tratamiento de RNasa. Aunque puede que el cartucho del equipo QuickGene se obstruya o el tiempo de elución se dilate.
- Una vez seccionado, embeba inmediatamente los 5mg de sección de tejido en el Tampón de Lisis de Tejidos (MDT). Congele el lisado con Nitrógeno Líquido y almacénelo a –20ºC ó –80ºC si no va a preparar las muestras inmediatamente.
- Si mantiene las muestras a temperatura ambiente por un largo período de tiempo y/o congela y descongela repetidamente las muestras, el ADN genómico se degradará y se reducirá el rendimiento de la extracción.
- Mida con precisión el volumen de los tampones durante los experimentos.

<Etapas de Trabajo para la preparación de muestras en tejidos de mamíferos>

1. Lisis de Tejido

Tubo de microcentrifuga de 2ml

←Añada la muestra de tejido seccionado de mamífero: 5mg *1a

← Añada MDT: 180µl *1b

← Añada EDT :20µl *1c

Incubar durante toda una noche en el Agitador Rotativo a 55ºC, y disolver el tejido completamente *1d
Centrifugar *1e
Transfiera el sobrenadante a un micro tubo nuevo de 1.5ml

2. Tratamiento con RNasa (Opcional)

←Añada RNasa A:20µl *2a

Tapone el tubo para mezclar la solución *2b
Centrifugar *2c

Déjelo en reposo a temperatura ambiente por 2 minutos.

3. Adición del tampón de Lisis

←Añada LDT:180µl

Mezcle completamente por vortex por 15 segundos. *3a
Centrifugar

Incube a 70ºC por 10 minutos. *3b
Centrifugar

4. Adición de Etanol

←Añada Etanol (>99%):240µl *4a

Mezcle completamente por vortex por 15 segundos. *4b
Centrifugar *4c

Lisado *4d

5. Preparación con equipo de la serie QuickGene

Transfiera el lisado completo al cartucho del Sistema Automático de Aislamiento de Ácido Nucleico QuickGene *5a

Seleccione el modo "DNA TISSUE".
Pulse el botón START.

ADN genómico *5b
Volumen de la elución por defecto:200µl

Notas

1. Lisis de Tejido

1a; Mantenga estrictamente la cantidad de la muestra en 5mg durante los experimentos. Es recomendable cortar el tejido en pequeños trozos para una rápida disolución. Si mantiene las muestras a temperatura ambiente durante un largo período de tiempo, el ADN genómico se degradará y se reducirá el rendimiento de la extracción.

1b; Cuando las muestras están congeladas, descongélelas a temperatura ambiente antes de su uso y sumérjalas en el Tampón de Lisis de Tejidos (MDT) inmediatamente.
Cuando las muestras son frescas, sumerja 5mg de sección de tejido en el Tampón de Lisis de Tejidos (MDT) inmediatamente.

1c; La temperatura recomendada de almacenamiento para Proteinasa K (EDT)(una vez abierto el kit S ADN en tejidos QuickGene) es entre 2ºC a 8ºC (recomendado para mantener su actividad)

1d; El tiempo de incubación puede cambiar dependiendo de las condiciones y características de las muestras. Disuelva el tejido completamente.

1e;Si hay presentes agregados en el lisado, retírelos por centrifugación (8,000xg o 10,000rpm, 3min. a temperatura ambiente) o cambie el protocolo de acuerdo con la sección de Resolución de Problemas. Disuelva las muestras completamente agitando e incubando.

2. Tratamiento con RNasa (Opcional)

El ARN se puede purificar con ADN Genómico sin tratamiento con RNasa. Si el contaminante ARN tiene efectos negativos en los experimentos siguientes, aplique el tratamiento con RNasa en este momento.

2a; Use la RNasa recomendada (vea Sección 4. Otros Materiales necesarios, no incluidos en este kit). Si usa la RNasa (Invitrogen Cat#12091), añada 60µl para cada muestra. 20µl de 100mg/ml RNasa pueden digerir completamente el ARN total de 5mg de tejido de hígado

2b; Mezcle bien la RNasa y el lisado

2c; Centrifugar completamente.

3. Adición del Tampón de Lisis

3a; Mezcle completamente el Tampón de Lisis (LDT) y la solución de la muestra. Si la mezcla no se completa con el agitador Vortex Mixer, mezcle por pipeteo, tapping o inversión.

3b&3d; Si la solución se enturbia al añadir el Tampón de Lisis, incube la solución de la muestra a 70ºC

4. Adición de Etanol

4a; Utilice Etanol (>99%)

4b; Mezcle completamente la solución de la muestra y el etanol (>99%). Si la mezcla no se completa con el Vortex Mixer, utilice el pipeteo, el tapping, la inversión, etc.

4c; Si la solución se enturbiara después de añadir el etanol (>99%) (debido a una baja temperatura de la habitación), incube la solución de la muestra a 55ºC. Enfrie las muestras a temperatura ambiente antes del paso siguiente.

4d; Transfiera el lisado completo al cartucho del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene.
Realice el aislamiento en un período máximo de 30 minutos después de la preparación del lisado.

5. Preparación con equipo de la serie QuickGene

4a; Transfiera el lisado completo al cartucho del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene.
Realice el aislamiento en un período máximo de 30 minutos después de la preparación del lisado.

4b;El volumen estándar de elución por defecto es 200µl, aunque se puede cambiar esta configuración a un valor inferior de volumen, hasta un mínimo de 50µl. En el caso de trabajar con una configuración de 50µl, el rendimiento podría bajar.

<Etapas de Trabajo para la preparación de muestras de secciones de tejido de cola de ratón>

1. Lisis de Tejido

Tubo de microcentrifuga de 2ml

←Añada la muestra de tejido seccionado de cola de ratón: 5mg *1a

← Añada MDT: 180µl *1b

← Añada EDT :20µl *1c

Incubar durante toda una noche en el Agitador Rotativo a 55ºC, y disolver el tejido completamente *1d
Centrifugar *1e
Transfiera el sobrenadante a un micro tubo nuevo de 1.5ml

2. Tratamiento con RNasa (Opcional)

←Añada RNasa A:20µl *2a

Tapone el tubo para mezclar la solución *2b
Centrifugar *2c
Déjelo en reposo a temperatura ambiente por 2 minutos

3. Adición de Reactivos

←Añada el tampón premezclado LDT:180µl con etanol (>99%) (240µl):420µl *3a

Mezcle completamente por vortex por 15 segundos. *3b
Centrifugar *3c

Lisado *3d

5. Preparación con equipo de la serie QuickGene

Transfiera el lisado completo al cartucho del Sistema Automático de Aislamiento de Ácido Nucleico QuickGene *4a

Seleccione el modo "DNA TISSUE".
Pulse el botón START.

ADN genómico *4b
Volumen de la elución por defecto:200µl

Notas

1. Lisis de Tejido

1a; Mantenga estrictamente el volumen de la muestra de cola de ratón en 5mg durante los experimentos (unos 5mm, dependiendo del animal). Si mantiene las muestras a temperatura ambiente durante un largo período de tiempo, el ADN genómico se degradará y se reducirá el rendimiento de la extracción.

1b; Cuando las muestras están congeladas, descongelarlas a temperatura ambiente antes de su uso y sumérjalas en el Tampón de Lisis de Tejidos (MDT) inmediatamente.
Cuando las muestras son frescas, sumerja 5mg de sección de tejido en el Tampón de Lisis de Tejidos (MDT) inmediatamente.

1c; La temperatura recomendada de almacenamiento para Proteinasa K (EDT)(una vez abierto el kit S ADN en tejidos QuickGene) es entre 2ºC a 8ºC (recomendado para mantener su actividad)

1d; El tiempo de incubación puede cambiar dependiendo de las condiciones y características de las muestras. Disuelva el tejido completamente.

1e;Si hay presentes agregados en el lisado, retírelos por centrifugación (8,000xg o 10,000rpm, 3min. a temperatura ambiente) o cambie el protocolo de acuerdo con la sección de Resolución de Problemas. Disuelva las muestras completamente agitando e incubando.

2. Tratamiento con RNasa (Opcional)

El ARN se puede purificar con ADN Genómico sin tratamiento con RNasa. Si el contaminante ARN tiene efectos negativos en los experimentos siguientes, aplique el tratamiento con RNasa en este momento.

2a; Use la RNasa recomendada (vea Sección 4. Otros Materiales necesarios, no incluidos en este kit). Si usa la RNasa (Invitrogen Cat#12091), añada 60µl para cada muestra. 20µl de 100mg/ml RNasa (Sigma Cat#R5125) pueden digerir completamente el ARN total de 5mg de cola de ratón Balb/c (de 7 semanas de edad)

2b; Mezcle bien la RNasa y el lisado

2c; Centrifugar completamente.

3. Adición de Reactivos

3a; Mezcle completamente el Tampón de Lisis (LDT) de 180µl y 240µl etanol (>99%) antes de su uso.

3b; Mezcle completamente el Tampón de Lisis (LDT) y la solución de la muestra. Si la mezcla no se completa con el Vortex Mixer, utilice el pipeteo, la inversión, etc.

3c; Si la solución se enturbiara después de añadir el etanol (>99%) (debido a una baja temperatura de la habitación), incube la solución de la muestra a 55ºC. Enfrie las muestras a temperatura ambiente antes del paso siguiente.

3d; Transfiera el lisado completo al cartucho del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene.
Realice el aislamiento en un período máximo de 30 minutos después de la preparación del lisado.

4. Preparación con equipo de la serie QuickGene

4a; Transfiera el lisado completo al cartucho del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene.
Realice el aislamiento en un período máximo de 30 minutos después de la preparación del lisado.

4b;El volumen estándar de elución por defecto es 200µl, aunque se puede cambiar esta configuración a un valor inferior de volumen, hasta un mínimo de 50µl. En el caso de trabajar con una configuración de 50µl, el rendimiento podría bajar.

8.3 Aislamiento de ADN Genómico utilizando el Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene.

Notas: Configuración del sistema y operaciones básicas.
Por favor lea el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene antes de su utilización.

Antes de cada aislamiento realice la operación de "Descarga" en el Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene.

(1) Selección del modo de aislamiento

Seleccione el modo "DNA TISSUE" para el aislamiento de ADN genómico con el kit.
(ver Apéndice 1)

(2) Colocación de los cartuchos y los tubos

Abra la puerta frontal del instrumento y coloque los tubos de recogida y desecho en el contenedor de tubos de recogida .

- Utilice sólo los tubos especificados de recogida (CT) y los tubos especificados de desecho (WT) incluidos en el kit
  Monte el Contenedor de Cartuchos en el equipo y coloque de 1 a 8 cartuchos en el Contenedor de Cartuchos.
- Utilice sólo los Cartuchos especificados (CA)

Notas: Para detalles sobre el montaje de los tubos y cartuchos consulte el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene.
Una colocación incorrecta de los cartuchos puede provocar un aislamiento incorrecto o un vertido no deseado de la solución.
Utilice siempre guantes durante los experimentos para evitar la contaminación con nucleasa.

(3) Colocación de los reactivos

Prepare el volumen requerido (ver 8.1 Preparación de los reactivos) para el tubo del Tampón de Lavado (WDT) con etanol (>99%) y para el tubo del Tampón de Elución (CDT); colóquelos en el contenedor correspondiente y éste en su posición designada en el equipo.

Notas: Utilice siempre guantes durante la manipulación de los reactivos para evitar la contaminación con nucleasa.

- Para detalles sobre la colocación de los reactivos consulte el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene.

El volumen estándar de elución por defecto es 200µl, aunque se puede cambiar esta configuración a un valor inferior de volumen, hasta un mínimo de 50µl. En el caso de trabajar con una configuración de 50µl, el rendimiento podría bajar.

(4) Descarga

Coloque la "bandeja de descarga" y compruebe la correcta colocación del los tubos de recogida y del contenedor de cartuchos.
Pulse el botón "DISCHARGE" después de haber cerrado la puerta frontal del instrumento.
Nota: La operación de descarga previa a la extracción resulta necesaria debido a que los tubos podrían contener algo de aire, y esto podría provocar una extracción de volumen de reactivos incorrecta.

(5) Aplicación de las muestras preparadas

Inserte el contenido de las muestras de lisado preparadas (Ver 8.2 Preparación de las Muestras), en cada cartucho (CA) utilizando micropipetas (cualquier agregado presente en el lisado deberá transferirse junto con el lisado al cartucho)

(6) Aislamiento

Compruebe que estén bien colocados todos los materiales de trabajo: Tampón de Lavado (WDT) con etanol (>99%), Tampón de Elución (CDT), Cartuchos (CA) con las muestras incluidas, Tubos de Desecho (WT), y tubos de Recogida (CT).
Cierre la puerta frontal del instrumento.
Confirme que se ha seleccionado el modo de operación apropiado en el panel de operación y pulse el botón [START]

(7) Recogida del ADN genómico

Una vez completado el proceso, el resultado de la extracción se indicará en el panel de operación como sigue:

✔ : Extracción satisfactoria
- (guión): Extracción fallida
_ (subrayado): No cartucho, o No muestra

Abra la puerta frontal y retire el Tubo de Recogida (CT) de su alojamiento.
Ya que el ADN genómico es eluído de los Cartuchos (CA), si se ha utilizado un volumen de 200µl de Tampón de Elución (CDT), se recuperará una solución de ADN de 200µl.
Tapone correctamente los Tubos de Recogida (CT) que contienen el ADN genómico aislado con los Tapones de tubo (CAP)

(8) Recogida de Materiales

Retire los Tubos de Desecho (WT) y deshágase del líquido de desecho de acuerdo con la normativa aplicable.
Retire el contenedor de cartuchos y deshágase de los cartuchos (CA)

> **Advertencia**: En cuanto al tratamiento de los residuos líquidos y los consumibles: Cuando utilice muestras potencialmente infecciosas para sus experimentos, realice el tratamiento de los residuos de acuerdo con la normativa aplicable.

9 Resolución de Problemas

Revise la información que se da a continuación para resolver posibles problemas durante la realización de los experimentos con el kit S de tejidos de QuickGene. Para problemas relacionados con el sistema (esto es, cuando aparezca un mensaje de error en el equipo QuickGene, consulte el Manual de Usuario del equipo de la serie QuickGene.

(1) Bajo rendimiento o no obtención de ADN.

Causa	Posible Solución
Condiciones de Almacenamiento de la muestra.	Las condiciones de almacenamiento incorrectas inducen un bajo rendimiento. Pruebe a almacenar las muestras en diferentes condiciones incluso variando el volumen de la muestra y el período de almacenamiento.
Muestras no completamente disueltas	Sumerja inmediatamente 5mg de tejido seccionado en el Tampón de Lisis de Tejidos (MDT) con Proteinasa K. Corte el tejido en pequeños trozos Prolongue el tiempo de incubación en el paso correspondiente a la lisis. Disuelva el tejido completamente agitando e incubando. Prepare el volumen de muestra de 200µl antes de la adición de LDT
Reactivos y tejidos añadidos en orden incorrecto.	Añada los reactivos en los microtubos en el siguiente orden cuando prepare el lisado de los tejidos: Lisado de Tejidos→Tampón de Lisis (LDT)→Etanol (>99%), o lisado de cola de ratón→Tampón de Lisis (LDT) con mezcla de etanol (>99%)
Demasiados tejidos	Reduzca la cantidad de tejidos por debajo de la cantidad especificada
Insuficiente homogenización a continuación de la adición del Tampón de Lisis (LDT)	Mezcle por vortex suficientemente (15 segundos) inmediatamente después de la adición del Tampón de Lisis (LDT).
No se añadió el volumen requerido de etanol al Tampón de Lavado	Antes de comenzar compruebe siempre que se ha añadido el volumen requerido de etanol al Tampón de Lavado (WDT)
Se ha utilizado un Tampón de Lavado (WDT) usado previamente (incluido etanol).	Antes del uso, examine visualmente el Tampón de Lavado usado (WDT incluido etanol), el cual ha podido utilizarse durante un día o más en el instrumento
El lisado no se ha aplicado completamente a los cartuchos (CA)	Si hay presentes agregados en el lisado, aplíquelos en los cartuchos junto con el lisado.
Se han usado una cantidad insuficiente de reactivos.	Asegúrese de que hay suficiente cantidad de reactivo en las botellas de reactivo
Aparición de precipitados en los reactivos	Vea Sección (4)

(2) Obstrucción del Cartucho

Causa	Posible Solución
Se ha usado una cantidad excesiva de tejido	Reduzca la cantidad de tejidos a una cantidad por debajo de la especificada.
Insuficiente homogenización a continuación de la adición del Tampón de Lisis (LDT)	Mezcle por vortex suficientemente (15 segundos) inmediatamente después de la adición del Tampón de Lisis (LDT).
Muestras no completamente disueltas	Vea Sección (1)
Obstrucción del cartucho con insoluble.	Retire el insoluble centrifugando antes de añadir el Tampón de Lisis (LDT)

(3) Experimentos subsiguientes (por ejemplo PCR) insatisfactorios

Causa	Posible Solución
Cantidad inapropiada de ADN usada para experimentos subsiguientes	Determinar la concentración basada en la absorbancia a 260nm
Degradación del ADN genómico	Sumerja inmediatamente los 5mg de tejido seccionado en el Tampón de Lisis de Tejidos (MDT), o bien congele el lisado con nitrógeno líquido y almacene a -20ºC o a -80ºC si no va a preparar las muestras inmediatamente.

(4) Aparición de precipitados en los reactivos

Causa	Posible Solución
Almacenado a baja Temperatura	Conserve las soluciones entre 15ºC y 28ºC Si hay presentes precipitados, incube la botella de MDT en baño de agua a 55ºC y la botella de LDT a 37ºC y mezcle invirtiendo la botella intermitentemente hasta que se disuelva el precipitado

(5) Las soluciones se enturbiaron después de añadir etanol (>99%) en las Etapas de trabajo del tejido de mamíferos o al añadir el tampón LDT con etanol (>99%) en la mezcla de la preparación de las Etapas de trabajo de la sección de la cola de ratón.

Causa	Posible Solución
Baja Temperatura	Incube la solución de la muestra a 55ºC para disolver y enfríe las muestras a temperatura ambiente antes del siguiente paso.

(6) Los tubos de recogida están vacíos después de la elución

Causa	Posible Solución
Se ha olvidado realizar la Descarga	Coloque la bandeja de descarga y compruebe que los tubos de recogida y el contenedor de cartuchos estén colocados en su posición correcta. Pulse el botón "DISCHARGE" después de cerrar la puerta frontal del instrumento. Consulte el Manual de Usuario del equipo de la serie QuickGene.

10 Información sobre pedidos

Producto	Cat #
Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene	
Kit S para ADN en tejidos QuickGene	DT - S
Kit de reactivos para aislar ADN genómico en tejidos para QuickGene	
Kit S para ADN en sangre total QuickGene	DB - S
Kit de reactivos para aislar ADN genómico en sangre total para QuickGene	
Kit S para ARN en tejidos QuickGene	RT - S
Kit de reactivos para purificar el ARN total en tejidos para QuickGene	
Kit S para ARN en células en cultivo QuickGene	RC - S
Kit de reactivos para purificar el ARN total en células en cultivo para QuickGene	
Kit S ADN en Plásmidos para QuickGene	PL - S
Kit de reactivos para extraer el ADN en plásmidos para QuickGene	

Marca Registrada: Falcon TM (Becton, Dickinson and Company)
La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) está patentada por Roche Molecular Systems y F Hoffmann-La Roche Ltd.

11 Contactos

http://lifescience.fujifilm.com
Fuji Photo Film Co., Ltd. LIFE SCIENCE PRODUCTS DIVISION
26-30, Nishiazabu 2-Chome, Minato-ku, TOKYO 106-8620, JAPAN
Tel:+81-3-3406-2201
Fax:+81-3-3406-2158
E-mail:sginfo@tokyo.fujifilm.co.jp

Filiales

< United States, Canada, Mexico>
Fujifilm Medical System U.S.A.,Inc.
419 West Avenue, Stamford, CT 06902, U.S.A.
Tel:+1-203-324-2000 ext.6112 (1-800-431-1850 ext. 6112 in the U.S.)
Fax:+1-203-351-4713
E-mail:SSG@fujimed.com
URL: http://lifescience.fujifilm.com/

< Europe (excl. UK and Ireland)>
Fuji Photo Film (Europe) GmbH,
Heesenstr. 31, 40549 Dusseldorf, Germany,
Tel: +49-211-5089-174
Fax: +49-211-5089-139
E-mail: lifescience@fujifilmeurope.de
URL: http://www.fujifilm.de

< UK, Ireland >
Fuji Photo Film (U.K) Ltd.
Unit 12 St Martins way, St Martins Business centre, Bedford, MK42 OLF, U.K
Tel:+44-1234-245291
Fax:+44-1234-245293
E-mail: lifesciences@fuji.co.uk
URL:http://www.fujifilm.co.uk/lifesciences/

< China >
Fuji Photo Film (China) Investment Co., Ltd.
31st floor, Hong Kong New World Tower, No.300 Huai Hai Zhong Road, Shanghai P.R China
Tel:+86-21-3302-4655~363
Fax:+86-21-6384-3322
E-mail: wgxiang@fujifilm.com.cn
URL: http://www.fujifilm.com.cn

Distribuidores

<Australia, New Zealand>
Berthold AUSTRALIA PTY Ltd.
40 Clements Avenue, BUNDOORA Victoria 3083, Australia
Tel:+61-3-9467-6277 (1-300-300-865 in Australia)
Fax:+61-3-9467-7493
E-mail: rafael@berthold.com.au
URL: http://berthold.com.au

<Korea>
Shinki Hi-Tec
GUNWHA Bldg. 7-1, Yangjae, 1-dong, Secho-gu, Saoul, 137-886 Korea
Tel:+82-2-572-1600
Fax:+82-2-572-0058
E-mail: info@skhitec.co.kr
URL: http://www.skhitec.co.kr

<Taiwan>
HUNG CHONG CORP.
No.38, Sec. 6, Min Chuan E Road, Taipei, Taiwan
Tel:+886-2-2791-1188
Fax:+886-2-2794-2248
E-mail: fuhsing@mail.hungchong.com.tw
URL: http://www.FUJIFILM.COM.TW

Apéndice 1 El modo "DNA TISSUE" se configura con los siguientes parámetros:

	DNA TISSUE (ADN en tejidos)
PARAMETRO	**VALOR**
BIND PEAK	120
WASH COUNT	3
WASH PEAK	110
WASH VOL1	750
WASH VOL2	750
WASH VOL3	750
WASH VOL4	750
WASH VOL5	750
WASH DIP TM	0
WAS2 WAIT T	0
WAS2 COUNT	0
WAS2 PEAK	110
WAS2 VOL1	750
WAS2 VOL2	750
WAS2 VOL3	750
WAS2 VOL4	750
WAS2 VOL5	750
ELUT VOL	200
ELUT PEAK	100
ELUT DIP TM	90